

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2002年7月11日 (11.07.2002)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 02/053154 A1

- (51) 国際特許分類: A61K 31/41, 高槻市明田町4番38号 第一製薬株式会社 大阪工場内
9/107, 47/14, 47/24, 47/44 // A61P 25/28 Osaka (JP).
- (21) 国際出願番号: PCT/JP01/11047 (74) 代理人: 弁理士 小栗昌平, 外(OGURI, Shohei et al.);
〒107-6028 東京都港区赤坂一丁目12番32号 アーク
(22) 国際出願日: 2001年12月17日 (17.12.2001) 森ビル28階 栄光特許事務所 Tokyo (JP).
- (25) 国際出願の言語: 日本語 (81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB,
BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK,
(26) 国際公開の言語: 日本語 DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU,
ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS,
(30) 優先権データ: LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO,
特願2000-400130 2000年12月28日 (28.12.2000) JP NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL,
特願2001-13160 2001年1月22日 (22.01.2001) JP TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA,
ZM, ZW.
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 第一 (84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW,
製薬株式会社 (DAIICHI PHARMACEUTICAL CO., MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許
LTD.) [JP/JP]; 〒103-8234 東京都中央区日本橋三丁目 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許
14番10号 Tokyo (JP). (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,
LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG,
CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- (72) 発明者; および
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 海老原清 (EBI- 添付公開書類:
HARA, Kiyoshi) [JP/JP]. 鈴木則男 (SUZUKI, Norio) — 国際調査報告書
[JP/JP]. 菊池 寛 (KIKUCHI, Hiroshi) [JP/JP]; 〒134- 2文字コード及び他の略語については、定期発行される
8630 東京都江戸川区北葛西一丁目16番13号 第一製 各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語
薬株式会社 東京R&Dセンター内 Tokyo (JP). 山内仁 のガイドランスノート」を参照。
史 (YAMAUCHI, Hitoshi) [JP/JP]; 〒569-0806 大阪府

(54) Title: PHARMACEUTICAL EMULSION PREPARATION

(54) 発明の名称: エマルション製剤

(57) Abstract: An ebselen-containing stable emulsion preparation of high quality which is obtained by a method comprising using phosphatidylcholine and adding thereto a certain amount of phosphatidylethanolamine to regulate the pH of the final preparation to 6 to 8.

(57) 要約:

本発明は、ホスファチジルコリンを用い、それに一定量のホスファチジルエタノールアミンを添加し、最終製剤のpHを調節6から8とする事により、安定で品質の高いエブセレン含有エマルション製剤を得ることができる。

WO 02/053154 A1

明細書

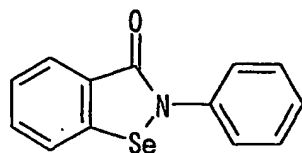
エマルション製剤

技術分野

良好な安定性や品質を有するエブセレン含有エマルション製剤に関する。

背景技術

エブセレンは下記の構造式



を有する化合物で、脳障害の予防及び治療剤(特開平1-131113号公報参照)として現在開発が進められている。

エブセレンは水への溶解度が極めて低い化合物であり、注射剤として開発するために、有機溶媒にエブセレンを溶解して製剤化していたが、当該製剤を注射するために水又は生理食塩水で希釈するとエブセレンの結晶が析出してきってしまうという問題があった。そこで、エブセレンを1種若しくは数種の天然又は合成リン脂質との混合により安定な水溶液を得る方法(特開平2-250876号公報参照)が考え出されたが、エブセレンが分解したり、二層に分離してしまったり、あるいは得られた製剤が変色してしまうことがあった。

従来の製剤は、安定性が低く品質の面で満足できるものではなかった。

発明の開示

そこで、本発明者らは鋭意検討した結果、ホスファチジルコリン(以下、PCと表すこともある。)を用い、それに一定量のホスファチジルエタノールアミン(以下、PEと表すこともある。)を添加し、最終製剤のpHを調節6から8とする事により、安定で品質の高いエブセレン含有エマルション製剤を得ることができると見出し、本発明を完成した。

ホスファチジルコリンはレシチン由来のものが好ましく、レシチンとしては卵黄レシチン、大豆レシチン等が挙げられ、中でも卵黄レシチン等が好ましい。

本発明においては、PCに代えて、レシチンを用いることも可能であるが、その場合にはレシチン中のホスファチジルコリンの含量は、90%以上が好ましく、より好ましくは98%以上である。

ホスファチジルコリンとホスファチジルエタノールアミンの比は、通常はホスファチジルエタノールアミン：ホスファチジルコリン=0.1：99.9～10：90(重量比)、好ましくはホスファチジルエタノールアミン：ホスファチジルコリン=0.1：99.9～5：95である。また、最終製剤中のレシチンの濃度は、0.5～4%である。

用いる油脂としては、大豆油、トウモロコシ油、落花生油、サフラワー油、オリーブ油、ゴマ油、ヒマシ油、綿実油、カカオ脂、硬化油、牛脂、卵黄油、中鎖脂肪酸トリグリセリド等のトリグリセリドが好ましい。中でも、大豆油、トウモロコシ油、サフラワー油等の植物油が好ましく、特に大豆油が好ましい。油脂の含量は、通常はエマルジョン製剤100mLあたり1gから40g、好ましくは5gから30gである。

製剤のpHは、6から8が好ましく、より好ましくは6.5から7.5である。pHは、水酸化ナトリウム、ジエタノールアミン、トリエタノールアミン、トロメタミン、グリシン、アンモニア等で調整すればよい。

エプセレンの含量は、用いる油脂によるが、通常、油脂1mlに対し0.1から2mgであり、最終製剤中の濃度は0.01から0.2%である。

本発明の製剤は、等張にしなくてもよいが、マンニトール、ガラクトース、グルコース、イノシトール、乳糖およびショ糖等の糖、グリセリン、プロピレングリコール、ブチレングリコールおよびエチレングリコール等の多価アルコール、塩化ナトリウム等の等張化剤を用いて等張にしてもよい。

また、製剤化にあたり、適当な添加剤を用いることができ、添加剤としては、ビタミンC、ビタミンE、BHT、亜硫酸ナトリウム等の抗酸化剤、リゾレシチン、オレイン酸、ステアリン酸、デキストリン、シクロデキストリン等の安定化

剤、塩酸プロカイン等の無痛化剤等が挙げられる。

本発明にかかるエマルションの粒子径については、肝毒性等の毒性の観点から、100nmから300nmが好ましい。

本発明のエマルション製剤は以下のような工程で調整できる。

ホスファチジルコリン及びホスファチジルエタノールアミンを分散若しくは溶解した油脂にエブセレンを溶解、あるいはエブセレンを溶解した油脂にホスファチジルコリン及びホスファチジルエタノールアミンを分散若しくは溶解させる。得られる溶液に、水又はグリセリン等の添加剤を溶解した水溶液を加えホモジナイザー等で粗乳化し、pHを調整後、高圧乳化機あるいは高圧噴射型乳化機で本乳化させる。得られたエマルションのpHを調整した後、分注・滅菌することにより、目的のO/W型エマルション製剤を得ることができる。

滅菌法としては、濾過滅菌あるいは加熱滅菌を使用することができる。濾過滅菌の場合には、エマルション製剤のpHは6から8とすればよい。また、加熱滅菌の場合には、滅菌前のpHは8から9とすればよく、これを滅菌することにより目的のpH6から8のエマルション製剤とすることができる。

発明を実施するための最良の形態

実施例1

- ① 濃グリセリン50gを正確に量りとり、注射用蒸留水を加えて全量2000mLとした。
- ② 卵黄レシチン(ホスファチジルコリン含量98%)1.485g及びホスファチジルエタノールアミン0.015gをナスコルに量りとり、これにクロロホルムを加えて溶解した。次にクロロホルムをエバポレーターにて留去し、デシケーター中にて一晚減圧乾燥して、脂質混合物を得た。
- ③ 一方、エブセレン0.2gと大豆油50gを別の容器に量りとり、オートクレーブ処理(121°C、20分)することによりエブセレンを完全に大豆油中に溶解した。
- ④ ②で調製した脂質混合物に、①で調製した2.5%グリセリン水溶液147

mLを加え、TKホモミクサー（特殊機化工業(株)製）を用いて10分間乳化した（粗乳化I）。

⑤ この液に③のエプセレンの大豆油溶液を徐々に加え、更に10分間乳化した（粗乳化II）。得られた液を室温にもどした後、pHを9.03に調整した。pH調整後、マイクロフルイダイザー（Microfluidics Co.）を用いて、バス回数25回で本乳化（コイル部は氷水冷却）を行った後、再度pHを調整した（pH8.97）。

⑥ pH調整後、ガラスバイアルに10mLずつ分注して、121°C20分の条件で滅菌を行い、本願発明のエプセレンを含むO/W型エマルジョン製剤を得た。

実施例2

大豆油に代えてミグリオールを使用し、表1に記載した成分、量及び条件で、上記製法に準じて調製した。粗乳化II終了時にはpHを8.95、マイクロフルイダイザーで本乳化後はpHを8.76に調整した

参考例1

大豆油に代えてミグリオールを使用し、ホスファチジルエタノールアミンを使用しないで、表1に記載した成分、量及び条件で、上記製法に準じて調製した。

比較例1から5

表1に記載した成分、量及び条件で、上記製法に準じ比較例1から3を製造した。また、特開平2-250876号公報の例14に記載された方法に準じて比較例4及び5を表1に記載した成分、量及び条件で製造した。

表 1

エブセレン含有エマルション製剤の処方(100mLあたり)

	エブセレン (g)	卵黄レシチ ン中のPC ¹⁾ の含量(%)	卵黄レ シチン (g)	PE ²⁾ (g)	油脂 (g)	pH 調整
実施例1	0.1	98	1.485	0.015	大豆油(25g)	有
実施例2	0.1	98	1.425	0.075	ミグリオール812(25g)	有
参考例1	0.1	98	2.4	0	ミグリオール812(20g)	有
比較例1	0.1	98	1.5	0	大豆油(25g)	有
比較例2	0.1	98	1.425	0.075	大豆油(25g)	無
比較例3	0.1	83	2.4	0	ミグリオール812(20g)	有
比較例4	0.1	98	2.4	0	ミグリオール812(20g)	無
比較例5	0.1	83	2.4	0	ミグリオール812(20g)	無

1) PC : ホスファチジルコリン、2) PE : ホスファチジルエタノールアミン
製剤の物性値の測定方法

外観

製剤を目視により観察した。

主薬含量測定

HPLC法による測定

[HPLC条件]

移動相 : リン酸緩衝液(pH 2.5) / アセトニトリル / メタノール = 5 / 5 / 3

検出器 : JASCO 875UV

検出波長 : 262nm

カラム温度 : 40°C付近の一定温度

流速 : 0.8mL

注入量 : 10μL

測定時間 : 35分

カラム：YMC-Pack ODS-AM(栄伸ケミカル社製)

AM-302 150mm×4.6mm I. D.

ガードカラム：YMC-Guard pack ODS-AM(栄伸ケミカル社製)

BBC-4-ODS-5-AM

10mm×4.0mm I. D.

[試料調製法]

エブセレン標準原液及び内部標準液(I S)の調製

エブセレン50mgとIS(2, 4, 5-トリクロロアニリン)100mgを別々に量りとり、イソプロパノールでそれぞれ正確に50mLとした。

試料溶液の調製

- ① 予めイソプロパノール約40mLをメスフラスコに入れておき、これにエマルジョン製剤1mLを正確に採り、用いたホールピペットをメスフラスコ内のイソプロパノールで数回共洗いした。
- ② ①のメスフラスコにIS1mLを正確に量り、イソプロパノールで正確に50mLとした。
- ③ ②で調製した液2mLを正確に量り、移動相2mLを正確に加えて振盪混和した。
- ④ ③で調製した液を0.45 μ m HVフィルターで濾過し、試料溶液とした。

標準溶液の調製

- ① 予めイソプロパノール約40mLをメスフラスコに入れておき、プラセボ製剤(エブセレンを含有しないエマルジョン製剤)1mLを正確に採り、用いたホールピペットをメスフラスコ内のイソプロパノールで数回共洗いした。
- ② ①のメスフラスコに標準原液1mLとIS1mLを正確に量り、イソプロパノールで正確に50mLとした。
- ③ ②の溶液2mLを正確に量り、移動相2mLを正確に加えて振盪混和した。
- ④ ③で調製した液を0.45 μ m HVフィルターで濾過し、標準溶液とした。

粒子径

5%グルコースで製剤を適宜希釈し測定した。

測定器：Particle Sizing Systems, 380ZLS(NI
COMP社)

pH

製剤原液をそのまま測定した。

測定器：Φ45 pH Meter (BECKMAN社)

結果

実施例及び比較例により得られたエマルジョン製剤につき、上記の評価項目について、観察・測定した結果を表2に示した。

表2

エブセレン含有製剤の調製結果(加熱滅菌後冷却した時点)

	外観	エブセレン含量 (mg/mL)	粒子径 (nm)	pH
実施例1	白色懸濁	1.08	290	7.15
実施例2	白色懸濁	0.98	229	7.07
参考例1	白色懸濁	0.93	376	6.57
比較例1	二層分離	—	725 ⁴⁾	7.02
比較例2	二層分離	—	—	4.53
比較例3	褐色懸濁	0.82 ³⁾	149	6.64
比較例4	二層分離	—	2928 ⁴⁾	6.35
比較例5	褐色懸濁	0.85 ³⁾	151	3.84

3) : 分解ピークが認められた。

4) : 二層分離前の試料のデータ

上記表2から明らかなように、ホスファチジルコリン含量が高い卵黄レシチンを使用し、製剤中にホスファチジルエタノールアミンを含有し、pHが6から8の製剤は、粒子径の小さな白色懸濁のエマルジョンとなった。なお、油脂としてミグリオールを使用すると、ホスファチジルエタノールアミンを使用しなくても

白色懸濁のエマルションを得ることができるが、ホスファチジルエタノールアミンを使用した製剤に比べ粒子径が大きくなってしまった(参考例1)。

これに対して、ホスファチジルコリン含量が低い(83%)卵黄レシチンを使用すると(比較例3及び5)、調製された製剤の外観が褐色懸濁となってしまった。

一方、ホスファチジルエタノールアミンを使用しないと(比較例1)、二層分離してしまい、エマルションとならなかった。

そして、pHを調整しないと(比較例2及び4)、二層分離してしまい、エマルションとならなかった。

産業上の利用可能性

本発明の製剤は、エマルションとして安定性に優れ、また、加熱滅菌後もエマルションとしての優れた安定性を有し、エマルション製剤として優れたものである。

請求の範囲

1. エプセレン、油脂、ホスファチジルコリン及びホスファチジルエタノールアミンを含み、pHが6から8のエマルジョン製剤。
2. pHが6.5から7.5である請求項1記載のエマルジョン製剤。
3. ホスファチジルエタノールアミンとホスファチジルコリンの比がホスファチジルエタノールアミン：ホスファチジルコリン=0.1：99.9～10：90(重量比)である請求項1から2のいずれか一項に記載のエマルジョン製剤。
4. ホスファチジルエタノールアミンとホスファチジルコリンの比がホスファチジルエタノールアミン：ホスファチジルコリン=0.1：99.9～5：95(重量比)である請求項1から2のいずれか一項に記載のエマルジョン製剤。
5. 油脂がトリグリセリドである請求項1から4のいずれか一項に記載のエマルジョン製剤。
6. 油脂が大豆油である請求項1から4のいずれか一項に記載のエマルジョン製剤。
7. 製剤が滅菌製剤である請求項1から6のいずれか一項に記載のエマルジョン製剤。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/11047

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ A61K31/41, 9/107, 47/14, 47/24, 47/44 // A61P25/28

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ A61K31/41, 9/107, 47/14, 47/24, 47/44 // A61P25/28

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CAPLUS (STN) , MEDLINE (STN) , EMBASE (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP 604806 A2 (RHONE-POULENC RORER GMBH) , 10 December, 1993 (10.12.1993) , & JP 6-279467 A	1-7
A	JP 6-279307 A (Dietl Hans) , 04 October, 1994 (04.10.1994) , & EP 570829 A1 & EP 651995 A1	1-7
A	EP 366990 A2 (A. NATTERMSNN & CLE. GMBH) , 12 October, 1989 (12.10.1989) , & US 5288734 A & DE 3836892 A1 & JP 2-250876 A	1-7

 Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
23 January, 2002 (23.01.02)Date of mailing of the international search report
05 February, 2002 (05.02.02)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

<p>A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))</p> <p>Int. Cl¹ A61K31/41, 9/107, 47/14, 47/24, 47/44 // A61P25/28</p>														
<p>B. 調査を行った分野</p> <p>調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))</p> <p>Int. Cl¹ A61K31/41, 9/107, 47/14, 47/24, 47/44 // A61P25/28</p> <p>最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの</p>														
<p>国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)</p> <p>CAPLUS (STN), MEDLINE (STN), EMBASE (STN)</p>														
<p>C. 関連すると認められる文献</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>引用文献の カテゴリー*</th> <th>引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示</th> <th>関連する 請求の範囲の番号</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>A</td> <td>EP 604806 A2 (RHONE-POULENC RORER GMBH) 1993. 12. 10 & JP 6-279467 A</td> <td>1-7</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>JP 6-279307 A (ハンス・ディートル) 1994. 10. 04 & EP 570829 A1 & EP 651995 A1</td> <td>1-7</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>EP 366990 A2 (A. NATTERMSNN & CLE. GMBH) 1989. 10. 12 & US 5288734 A & DE 3836892 A1 & JP 2-250876 A</td> <td>1-7</td> </tr> </tbody> </table>			引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号	A	EP 604806 A2 (RHONE-POULENC RORER GMBH) 1993. 12. 10 & JP 6-279467 A	1-7	A	JP 6-279307 A (ハンス・ディートル) 1994. 10. 04 & EP 570829 A1 & EP 651995 A1	1-7	A	EP 366990 A2 (A. NATTERMSNN & CLE. GMBH) 1989. 10. 12 & US 5288734 A & DE 3836892 A1 & JP 2-250876 A	1-7
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号												
A	EP 604806 A2 (RHONE-POULENC RORER GMBH) 1993. 12. 10 & JP 6-279467 A	1-7												
A	JP 6-279307 A (ハンス・ディートル) 1994. 10. 04 & EP 570829 A1 & EP 651995 A1	1-7												
A	EP 366990 A2 (A. NATTERMSNN & CLE. GMBH) 1989. 10. 12 & US 5288734 A & DE 3836892 A1 & JP 2-250876 A	1-7												
<p><input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。</p>														
<p>* 引用文献のカテゴリー</p> <p>「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの</p> <p>「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの</p> <p>「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)</p> <p>「O」 口頭による開示、使用、展示等而言及する文献</p> <p>「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献</p> <p>「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの</p> <p>「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの</p> <p>「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの</p> <p>「&」 同一パテントファミリー文献</p>														
<p>国際調査を完了した日</p> <p>23. 01. 02</p>	<p>国際調査報告の発送日</p> <p>05.02.02</p>													
<p>国際調査機関の名称及びあて先</p> <p>日本国特許庁 (ISA/JP)</p> <p>郵便番号100-8915</p> <p>東京都千代田区霞が関三丁目4番3号</p>	<p>特許庁審査官 (権限のある職員)</p> <p>森井 隆信</p> <p>電話番号 03-3581-1101 内線 3451</p>	<p>4C 9455</p> 